Kaneka

2014. 10

Code No. KN-T110005

# カネカ　簡易 DNA 抽出キット version 2　取扱説明書

## 注意

■本品は研究用です。ヒト、動物への医療、臨床診断に使用しないでください。また、食品、化粧品、家庭用品などとしても使用しないでください。

■本品はアルカリ性の試薬を使用しております。本品の使用、廃棄にあたっては、保護具（保護手袋、保護メガネなど）着用や、眼に入った場合や皮膚に付着した場合はよく水洗するなど、実験室での一般の注意事項を厳守し安全に留意してください。

■誤って眼に入った場合や皮膚に付着した場合は、よく水洗いするなど応急処置を行い、必要があれば医師の手当などを受けて下さい。

## 特徴・用途

本品は、従来法より簡便な操作で、PCR やリアルタイム PCR などの核酸増幅法に利用可能な鋳型 DNA を約 8 分にて生体試料から簡易抽出するためのキットです。

| 内容物 (血液からの抽出の場合：250 テスト分、その他の検体の場合：50 テスト分) | | |
|---|---|---|
| 試薬 A | 5 ml | 1 本 |
| 試薬 B | 0.7 ml | 1 本 |

## 性能･品質

本品は、出荷前検査において、コムギ種子を検体として核酸を抽出し、PCR により増幅断片が検出されることを確認しています。

## 保存方法／使用期限

■保存方法　直射日光を避け室温で保存してください。

■使用期限　本品外袋に記載しております。

## 使用方法

■標準プロトコール

（植物）

1. 5～8 mm 四方に切断した葉やホモジナイザーで破砕した種子片注 1)を PCR チューブへ加え、試薬 A を 100µl 添加し、ピペッティングにより、よく撹拌する。
2. PCR チューブをヒートブロックなどにて 98 ℃、8 分間インキュベートする注 2)。
3. PCR チューブが冷めた後、試薬 B を 14 µl 添加し、よく撹拌する。
4. 上記 3 で得られた抽出液を使用前によく撹拌し注 3)、1～5 µl を鋳型 DNA として PCR に供する（50 µl PCR 反応系の場合）注 4)。

（血液）

1. 抗凝固剤（ヘパリン、EDTA など）を添加した 1~3 µl の血液注 1)を PCR チューブへ加え、試薬 A を 20 µl 添加し、ピペッティングにより、よく撹拌する注 2)。
2. PCR チューブをヒートブロックなどにて 98 ℃、8 分間インキュベートする。
3. PCR チューブが冷めた後、試薬 B を 3 µl 添加し、よく撹拌する。
4. 上記 3 で得られた抽出液を使用前によく撹拌し注 3)、1～5 µl を鋳型 DNA として PCR に供する（50 µl PCR 反応系の場合）注 4)。

（動物組織-マウステール）

1. 5～8 mm に切断したマウステール注 1)を PCR チューブに加え、試薬 A を 100 µl 添加し、ピペッティングにより、よく撹拌する。
2. PCR チューブをヒートブロックなどにて 98 ℃、8 分間インキュベートする注 2)。
3. PCR チューブが冷めた後、試薬 B を 14 µl 添加し、よく撹拌する。
4. 上記 3 で得られた抽出液を使用前によく撹拌し注 3)、1～5 µl を鋳型 DNA として PCR に供する（50 µl PCR 反応系の場合）注 4)。

（糞便）

1. 糞便注 1)を 100 µl の滅菌水に懸濁する。
2. 10 µl の糞便懸濁液を PCR チューブに加え、試薬 A を 100 に加添加し、ピペッティングにより、よく撹拌する。
3. PCR チューブをヒートブロックなどにて 98 ℃、8 分間インキュベートする注 2)。
4. PCR チューブが冷めた後、試薬 B を 14 µl 添加し、よく撹拌する。
5. 上記 4 で得られた抽出液を使用前によく撹拌し注 3)、1～5 µl を鋳型 DNA として PCR に供する（50 µl PCR 反応系の場合）注 4)。

（培養細胞／微生物）

1. 細胞懸濁液[注 1)]を、$10^3$～$10^5$個程度となるように PCR チューブへ加え、遠心し上清を除去する。$10^3$～$10^5$個程度の細胞ペレットに、試薬 A を 100 µl 添加し、ピペッティングにより、よく撹拌する。
2. PCR チューブをヒートブロックなどにて 98 ℃、8 分間インキュベートする[注 2)]。
3. PCR チューブが冷めた後、試薬 B を 14 µl 添加し、よく撹拌する。
4. 上記 3 で得られた抽出液を使用前によく撹拌[注 3)]し、1～5 µl を鋳型 DNA として PCR に供する（50 µl PCR 反応系の場合）[注 4)]。

注 1)適切な検体量は検体の種類や状態によって異なります。

注 2)インキュベーション時は PCR チューブの内圧が上がり、蓋が開き内容物が飛散する恐れがありますので、キャップロックなどで蓋をロックしてください。また、PCR チューブが十分冷めてから蓋を開けるようにしてください。

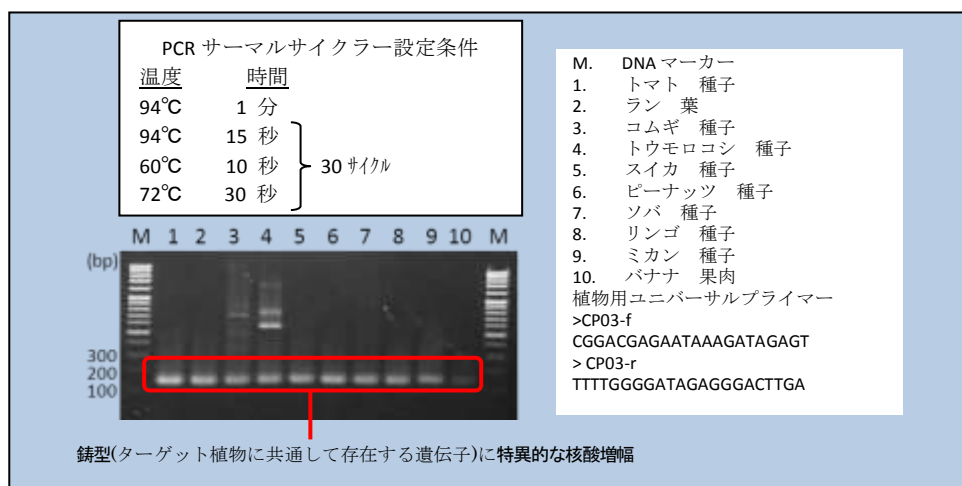
注 3)抽出液に多量の沈殿物が含まれる場合は、4 ℃、5000 rpm にて 5 分間遠心し、上清を鋳型 DNA として用いることを推奨します。

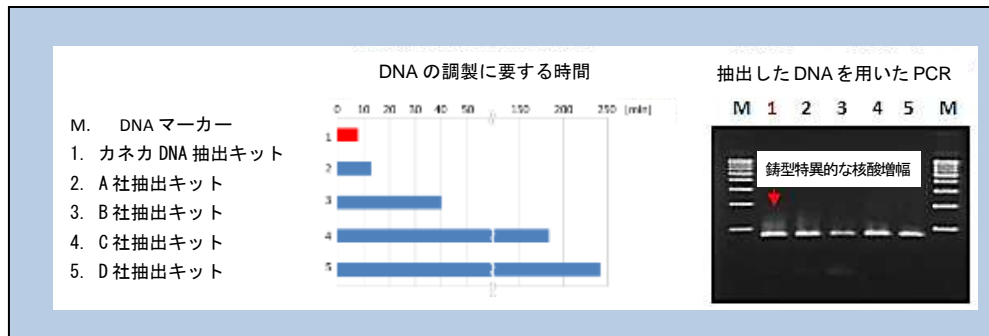
注 4)PCR には、夾雑物を含む抽出液からの核酸増幅に適したカネカ 高速増幅用 DNA Polymerase（製品コード KN-T120001）を推奨いたします。その他の PCR キットをご使用されますと、増幅反応の効率が低下する場合がございます。

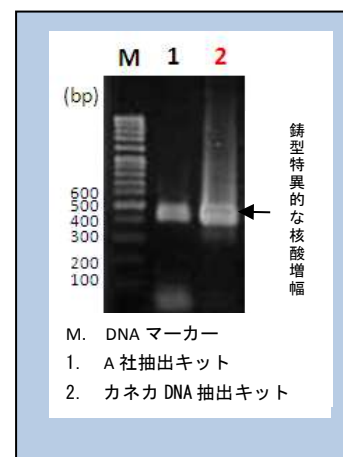
## 使用例

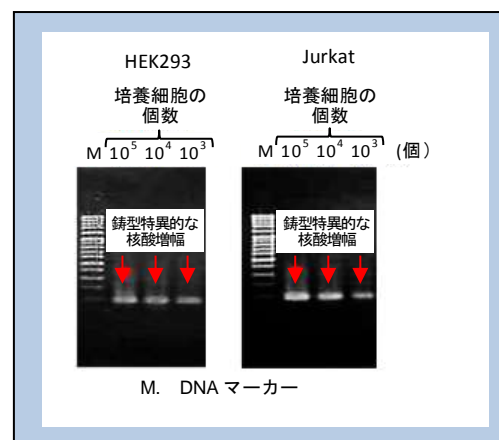
■植物種子からの核酸抽出結果（PCR）

植物検体[注 5)]から本品を用いて DNA を抽出した。抽出液を鋳型 DNA とし、カネカ 高速増幅用 DNA Polymerase を用いて T3000 Thermocycler (Biometra 社製)にて PCR を実施し、鋳型 DNA 特異的な核酸増幅（図中の矢印部分）を確認した。

注 5)トマト種子、ラン葉、コムギ種子、トウモロコシ種子、スイカ種子、ピーナッツ種子、ソバ種子、リンゴ種子、ミカン種子、バナナ果肉

■マウス血液からの核酸抽出結果（PCR）

マウス血液から本品を用いて DNA を抽出した。抽出液を鋳型 DNA とし、カネカ 高速増幅用 DNA Polymerase を用いて TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® Touch (タカラバイオ社製)にて PCR を実施し、鋳型 DNA 特異的な核酸増幅（図中の矢印部分）を確認した。

■マウステールからの核酸抽出結果（PCR）

マウステールから本品を用い DNA を抽出した。抽出液を鋳型 DNA とし、カネカ 高速増幅用 DNA Polymerase を用い TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® Touch (タカラバイオ社製)にて PCR を実施し、鋳型 DNA 特異的な核酸増幅（図中の矢印部分）を確認した。

■培養細胞からの核酸抽出結果（PCR）

遠心操作により回収した培養細胞（接着細胞 HEK293T および浮遊細胞 Jurkat、$10^5$,$10^4$ および $10^3$ 個）から、本品を用い DNA を抽出した。抽出液を鋳型 DNA とし、カネカ 高速増幅用 DNA Polymerase を用い TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® Touch (タカラバイオ社製)にて PCR を実施し、鋳型 DNA 特異的な核酸増幅（図中の矢印部分）を確認した。

## 保証

■弊社の責任の範囲は、本品自体に不具合があった場合の代替品への交換のみに限られ、直接・間接を問わずその他一切の損害について弊社はその責に任じません。あらかじめご了承ください。

## 廃棄方法

本品の取扱いの際は必ず保護具（保護手袋や保護メガネなど）を着用してください。

■残余廃棄物：少量であればペーパータオルやウエスに吸収させて焼却処分する。

■汚染容器及び包装：空容器を廃棄する場合、内容物を完全に除去した後に処分する。

## 使用上の注意

1. 本品はアルカリ性の試薬を使用しております。本品の使用、廃棄にあたっては、保護具（保護手袋、保護メガネなど）を着用し、実験室での一般の注意事項を厳守したうえで、安全に留意して行って下さい。誤って眼に入った場合や皮膚に付着した場合は、よく水洗いするなど応急処置を行い、必要があれば医師の手当などを受けて下さい。
2. 標準プロトコールにて DNA が抽出されない場合は、以下の操作によって改善されることがあります。
   ・検体量を変更する。
   ・98℃でのインキュベート時間を延長する（延長時間は最大で 5 分間まで）。
   ・検体を細かく切断または粉砕する。
3. 抽出液をすぐに使用しない場合は-20 ℃にて保存してください。

## お問い合わせ先

株式会社カネカ　バイオ・メディカル事業開発部

〒530-8288　大阪市北区中之島 2-3-18

TEL　06-6226-4264　FAX　06-6226-4848

お問い合わせ受付時間：平日 9:00～17:00

URL　http://www.kaneka-labtest.com